

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

tézisfüzet

A cirkadián ritmus sejt- és szervezetszintű vizsgálata



Dr. Káldi Krisztina

Semmelweis Egyetem
Általános Orvostudományi Kar
Élettani Intézet

Budapest
2020

Tartalomjegyzék

Irodalmi áttekintés..... 1

Célkitűzések..... 13

Az eredmények rövid ismertetése és diszkussziója 15

 A molekuláris óraműködés vizsgálata *Neurospora crassa*
 modellorganizmusban..... 15

 A humán óraműködés és annak zavarával összefüggő állapotok
 vizsgálata 21

Köszönetnyilvánítás 25

Közleményjegyzék..... 27

 Az értekezés alapjául szolgáló közlemények 27

 A posztdoktori időszak további közleményei 29

Irodalmi áttekintés

Bevezető

A Föld tengely körüli forgásának következményeként az élő szervezetek a nap folyamán állandóan változó környezeti tényezőknek vannak kitéve. A cirkadián ritmus egy olyan, a törzsfejlődés szinte valamennyi szintjén megjelenő biológiai szabályozó mechanizmus, amely segíti a szervezet alkalmazkodását a környezeti viszonyok napszakonkénti változásaihoz. A ritmus létrejöttének feltétele egy endogén időmérő rendszer működése. Ez a rendszer az ún. cirkadián óra, amely a fiziológiai folyamatok jellegét és intenzitását időben szabályozni képes. Az óra így egyrészt felkészíti a szervezetet a periodikusan bekövetkező környezeti változásokra, és ezáltal hatékonyabbá teszi az alkalmazkodást, optimalizálja az energiafelhasználást, másrészt segíti az antagonisztikus (pl. katabolikus és anabolikus) folyamatok időbeli elkülönülését.

A belső időmérés sejtszinten szerveződik molekuláris oszcillátorok működése révén. Többsejtes szervezetben az egyes sejtek molekuláris óráit különböző hírvivő mechanizmusok szinkronizálják. Magasabb rendű szervezetekben általában egyes szöveti órák domináns szerephez jutnak, aminek alapján központi és perifériás órákat különítünk el.

Tekintettel a cirkadián ritmus, illetve az azt szabályozó folyamatok nagymértékű konzerváltságára, a kronobiológia számos modellorganizmust alkalmaz. A molekuláris óra működési mechanizmusainak megismeréséhez nagymértékben hozzájárultak az ecetmuslicán és a *Neurospora crassa* nevű fonalas gombán tett alapvető genetikai és sejtbiológiai megfigyelések, míg a szervezeti szintű óraműködés megismerésében a vezérszerep természetesen az egérmodelleké és a humán vizsgálatoké.

Egy biológiai ritmust akkor tekintünk cirkadián ritmusnak, ha az állandó környezeti körülmények mellett is fennmarad, nagyjából 24 órás periódushosszal rendelkezik, környezeti hatásokra (*Zeitgeber*-ekre) reagál és periódushossza független a környezeti hőmérséklettől.

A molekuláris órák működése

A molekuláris időméréssel kapcsolatos kezdeti kutatások azokra a genetikai megfigyelésekre épültek, amelyek szerint ecetmuslicában a viselkedési ritmus különböző jellegű megváltozásai egyetlen gén mutációival voltak magyarázhatók. A 2017-ben Michael Young-gal közösen Nobel-díjat kapó Michael Rosbash és Jeffrey Hall 1988-ban tette közzé azt a szemléletváltó hipotézist, mely szerint a ritmus generálásának alapja, hogy egy, a nap folyamán felhalmozódó fehérje valamilyen módon gátlólag visszahat saját átíródására és ezáltal további felhalmozódására a sejtben. Az azóta transzkripciós-transzlációs visszacsatolási hurokként (transcription-translation feedback loop = TTFL) emlegetett mechanizmus az időmérés alappillére valamennyi eddig vizsgált magvas sejtben. A gátló hatású fehérjét vagy fehérjekomplexet az óra negatív faktorának, míg a kifejeződését serkentő transzkripciós faktorokat az óra pozitív komponenseinek nevezzük.

Az ecetmuslica mellett a *Neurospora crassa* nevű fonalas gomba a molekuláris óraműködés megismerése céljából legtöbbször tanulmányozott modellorganizmus. Mind folyékony, mind szilárd táptalajon könnyen és viszonylag olcsón fenntartható, gyorsan növekszik, genomja 2003 óta ismert, genetikai módosítása viszonylag egyszerű és számos természetes variánsa, illetve mutánsa, valamint genetikailag módosított törzse könnyen beszerezhető. További, kronobiológiai szempontból fontos tulajdonsága e gombának, hogy speciális táptalajon, illetve egy bizonyos genetikai háttér mellett (*bd*) cirkadián spóráképzési ritmust mutat, aminek segítségével hatékonyan tanulmányozható a cirkadián óra kimeneti ritmusa.

A *Neurospora crassa* molekuláris órája

A *Neurospora crassa* cirkadián óraművének négy alapvető elemét ismerjük: ezek a Frequency (FRQ), a FRQ-vel kölcsönhatásba lépő RNS-helikáz (FRQ-interacting RNA helicase, FRH), valamint két GATA-típusú transzkripciós faktor, a White Collar 1 (WC-1) és a White Collar 2 (WC-2) fehérjék. A WC-1 döntően csak a „főlőslegben” jelenlévő WC-2-vel alkotott komplexben stabil és minden eddig megismert működését e

komplex (White Collar Complex, WCC) formájában fejti ki. A WCC a molekuláris óra pozitív komponense, amely döntően a magban detektálható, és kötődve a *frq* promóter Clock-box részéhez a szubjektív éjszaka vége felé egyre erősödő intenzitással serkenti a *frq* átíródását. A FRQ fehérje felhalmozódása 4-6 órás késéssel követi az RNS szintjének emelkedését. A FRQ kötődik az FRH-hoz és az így kialakuló stabil FRQ-FRH-komplex egy része belép a sejtmagba. Itt a FRQ kölcsönhatásba lép a WCC-szel és gátolja annak transzkripciót serkentő aktivitását, azaz a saját RNS-ének további átíródását. A nap folyamán felgyülemelő FRQ fokozatosan foszforilálódik, és a hiperfoszforilált fehérje, részben a proteasóma útvonalon keresztül, lebomlik. Amennyiben a FRQ mennyisége egy bizonyos szint alá csökken, a WCC felszabadul a gátlás alól, a *frq* RNS újra átíródik, és egy új cirkadián periódus veszi kezdetét. A ma elfogadott molekuláris modell szerint mind a FRQ transzkripció és transláció közötti késés, mind a poszttranszlációs módosulások és sejtkompartmentek közötti fehérjemozgás időigényes mechanizmusai fontos feltételei annak, hogy a negatív visszacsatolás viszonylag lassan, stabil oszcillációt eredményezve valósuljon meg. E folyamatok eredményeként állandó körülmények mellett a *frq* expresszió RNS és fehérje szinten egyaránt robusztus, mintegy 22 órás periódushosszú ritmust követ. A FRQ nemcsak a negatív visszacsatolás kulcseleme, a citoszolikus FRQ a WCC mennyiségének stabilizálásával egy pozitív visszacsatolást is létrehoz.

Az órakomponensek poszttranszlációs módosulásai közül legtöbbet a foszforiláció-defoszforiláció folyamatát vizsgálták. A FRQ fehérjének több mint 100 szerin és treonin maradéka foszforilálódhat különböző kinázok működése révén. A FRQ különlegessége, hogy nem rendelkezik állandó stabil szerkezettel, az úgynevezett rendezetlen fehérjék csoportjába tartozik. Az egymást szigorú időbeli rendben követő foszforilációs lépések fokozatosan változtatják meg a fehérje egyes részeinek szerkezetét és ezáltal kölcsönhatásait, valamint a fehérje sejtbeli elhelyezkedését és stabilitását. Hasonlóan más fajokban találtakhoz, központi szabályozó szerepe van e folyamatokban a kazein kinázoknak. A FRQ-FRH komplex stabilan köti a kazein kináz 1a-t (CK1a), amely a fehérje több régióját is

képes foszforilálni, és e foszforilációs lépések egyrészt fékezik a fehérje magban való akkumulációját, másrészt elősegítik a FRQ ubikvitinációját és fokozatos degradációját a proteoszóma útvonalon. A kazein kináz 2-nek szintén szubsztrátja a FRQ, de kölcsönhatásuk valószínűleg tranzienst jellegű, és szerepet játszhat a hőmérséklet kompenzáció szabályozásában. A kazein kinázokon kívül több más kinázzal is kölcsönhatásba kerül a FRQ. Három protein foszfatáz aktivitása befolyásolja a *Neurospora* óra működését, ezek a protein foszfatáz 1 (PP1), a PP2A és a PP4. Egyelőre keveset tudunk arról, hogy ezek közül melyiknek van direkt, és melyiknek indirekt hatása a FRQ foszforiláltságára.

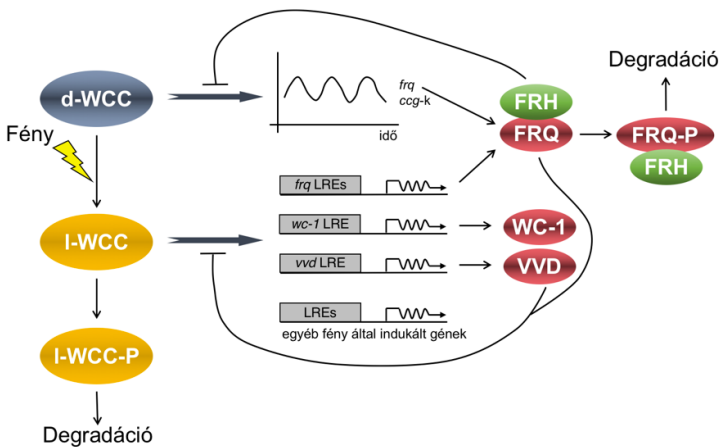
A WCC működésének és sejtmagba való transzlokációjának szintén alapvető szabályozó mechanizmusa a foszforiláció. Tekintettel arra, hogy a dolgozatban bemutatott munka egy jelentős része éppen e folyamatok megismerésére irányult, ezek ismertetése az Eredményeket bemutató fejezetben történik.

A fény mint *Zeitgeber* a WCC-en keresztül hat az órára, ugyanis a WCC kék fényre érzékeny receptorként is működik. A WC-1 kromoforként FAD-ot tartalmaz, amely a fehérje ún. light-oxygen-voltage (LOV vagy PASA) doménjéhez asszociált. Fény hatására a FAD kovalensen kötődik a LOV-doménhez, a WCC dimerként hiperkomplexet képez, és aktiválja a fényérzékeny gének átíródását. Ezek közé a gének közé tartozik a *frq* és maga a *wc-1* is, így a fényviszonyok megváltozása gyorsan módosíthatja a cirkadián óra működését is. A *wc-1* fényindukciója biztosítja a fényaktiváció hatására instabilabbá váló WC-1 pótlását. Ha a gombát állandó világosban tartjuk, a WCC nagyfokú aktivitással folyamatosan serkenti a *frq* expresszióját, az oscilláció és így az óraműködés megszűnik, és a *frq* RNS és fehérje szintje állandó és magas lesz („steady state” alakul ki).

A WCC aktivitását és így az óraműködést is modulálja egy szintén LOV-domént tartalmazó ún. szekunder fényreceptor, a VIVID (VVD). A VVD expresszióját a WCC szabályozza, a fehérje csak világosban detektálható. A VVD a fényadaptációért felelős molekuláris faktor, ugyanis gátolja a WCC fénytől megnövekedett aktivitását, és ezáltal tartós megvilágítás esetén is tranzienssé teszi a fényválaszt.

A fény mellett a hőmérsékletváltozás a legtöbbet tanulmányozott *Zeitgeber* a gombában, és az óra fázisa jellegzetes hőmérséklet érzékenységet mutat. Ugyanakkor a cirkadián periódushossz hőmérsékletkompenzált, azaz széles hőmérséklettartományban gyakorlatilag állandó. Bár e folyamat szabályozásáról már számos adat áll rendelkezésre, a pontos mechanizmus egyelőre ismeretlen. Tudjuk, hogy szükséges hozzá a FRQ CK2 általi foszforilációja, befolyásolja a VVD, és a finom hangolás része lehet a FRQ rövidebb és hosszabb izoformájának hőmérsékletérzékeny expressziója.

A *Neurospora* óra legfontosabb kimeneti faktorának — hasonlóan más fajokban találtakhoz — a pozitív komponens, azaz a WCC-t tekintjük, amely az óra által szabályozott gének (*clock controlled genes* = *ccgs*) kifejeződését közvetlenül, vagy más faktorokon keresztül, közvetetten befolyásolva határozza meg különféle sejtszintű működések napi ritmusát.



A Neurospora crassa molekuláris órájának alapvető komponensei és egymásra hatásuk

Bizonyos körülmények mellett ritmusos fenotípust írtak le olyan *Neurospora* törzsekben is, amelyekben hiányzik az előbbieken vázolt molekuláris óra egy vagy több komponense, és jellemzően nem expresszálódik FRQ. Az ilyen ritmusokat összefoglaló néven FRQ-nélküli

ritmusként, a feltételezett órarendszert FRQ-nélküli oszcillátorként (FRQ-less oscillator, FLO) szokták emlegetni. Egyes FLO-k működése csak speciális táptalajon tapasztalható, olyan kiegészítő komponensek mellett, mint a geraniol, farnezol, koffein vagy a ROS generátor menadion, és/vagy bizonyos mutációkhoz kötött. A FLO cirkadián ritmusként való definiálását korlátozza, hogy a legtöbb ezzel kapcsolatos tanulmány nem vizsgálta a cirkadián ritmus összes kritériumát, így például a hőmérsékletkompenzáció meglétét.

Az emlős sejtekben működő molekuláris óra

Az emlős óra pozitív faktora a CLOCK és a BMAL1 transzkripciós faktorok által alkotott komplex, az oszcillátor negatív szabályozói pedig a CRYPTOCHROME-ok (CRY1, CRY2) és a PERIOD (PER1, PER2, PER3) fehérjék. Egyes szövetekben, főleg idegsejtekben, a CLOCK helyett az NPAS2 szerepelhet a pozitív komplexben. A BMAL1 és CLOCK/NPAS2 fehérjék, a *Neurospora* WCC-éhez hasonlóan, a PAS domént tartalmazó transzkripciós faktorok csoportjába tartoznak. A pozitív faktor a *per* és *cry* gének E-box (EnhancerA pozitív-box) régiójához kötődve serkenti a génátírást. A keletkező PER és CRY multimer komplexként bejut a sejtmagba, és közvetlen kölcsönhatás révén gátolja a BMAL1-CLOCK/NPAS2 komplex DNS-hez való kötődését, létrehozva ezzel az alapvető visszacsatolási hurkot. Emellett más visszacsatolási körök is részt vesznek az óraműködés szabályozásában, stabilizálásában. Ezek közül a legjobban jellemzett a REV-ERB (REV-ERB α/β) és ROR (retinoic-acid-receptor-related orphan nuclear receptor, ROR $\alpha/\beta/\gamma$) fehérjék közreműködésével létrejövő kör. A BMAL1-CLOCK/NPAS2 komplex serkentőleg hat ezen magreceptorok kifejeződésére is, amik viszont közvetlenül hatnak vissza a *Bmal1* expressziójára, mégpedig a REV-ERB gátló, a ROR pedig serkentő módon. E hatások eredőjeként a BMAL1 szintje antifázisban ingadozik a PER fehérjék expressziójához viszonyítva.

A BMAL1-CLOCK transzkripciós faktor komplex oszcilláló aktivitása közvetetten vagy közvetve számos gén (*ccg*-k) ritmikus

A foszforiláción kívül más poszttranszlációs módosulások is fontos szerepet játszanak. A CLOCK acetiláz aktivitással rendelkezik, és a BMAL1 CLOCK általi acetilációja, és SIRT1-től függő deacetilációja a sejt metabolikus aktivitása és az óraműködés közötti kapcsolópontként működhet. A jelenlegi modell szerint, amennyiben magas a NAD^+ szint (pl. glükóz hiányában), a SIRT1 hiszton-deacetiláció, valamint a BMAL1 deacetilálása révén gátolja az óra által szabályozott gének átírását.

A fent ismertetett TTFL alapú molekuláris óraműködést elsősorban SCN neuronokban és májsejtekben vizsgálták részletesen. Bár a molekuláris óra alapvető komponenseit a legtöbb vizsgált sejtben sikerült kimutatni, egyelőre nem bizonyított, hogy azonos módon történik az időmérés minden perifériás sejtben. Több szövetben találtak olyan, transzkripciótól független oxidációs ciklust (peroxiredoxin oxidációs ciklus), amely egy citoplazmatikus óra jelenlétére utal. Ezen időmérési mechanizmus és a klasszikus TTFL-alapú óra egymásra gyakorolt hatásáról azonban egyelőre keveset tudunk.

A cirkadián ritmus szervezeti szintű regulációja emlősökben

Bár ritmusos működést sokféle magvas sejtben sikerült kimutatni, szervezeti szinten kiemelt irányító szerep jut a suprachiasmaticus magban (SCN) található neuronoknak. Ezt jól szemlélteti, hogy az SCN roncsolása számos élettani működés (pl. alvás/ébrenlét váltakozása, kortikoszteriodok szekréciója, testhőmérséklet változása) cirkadián oszcillációjának megszűnésével jár. Az SCN funkcionális egységként működik, az egyes sejtek óraműködésének összehangolásában mind idegi összeköttetések, mind parakrin faktorok szerepet játszanak. Környezeti hatásoktól izolált körülmények mellett az emberi SCN 25 órás periodicitású endogén ritmust generál. Az emlősök többségében legerősebb *Zeitgeber*-ként működő fényinformáció az SCN-t éri el először a központi idegrendszerben. A retina kék fényre érzékeny melanopszin fotopigmentet tartalmazó ganglionsejtjeiben keletkezik elsősorban az ingerület, ami a vizuális ingereket továbbító idegpályáktól függetlenül működő tractus retinohypothalamicus-on keresztül jut el az SCN-ba.

Az SCN-nek igen kiterjedt központi idegrendszeri összeköttetései vannak, így részben direkt módon, részben más struktúrákon keresztül képes befolyásolni különböző idegrendszeri területek és perifériás szövetek ritmusát. A legjobban ismert az idegi és hormonális jelkövetítés a periféria felé, de fontos a testhőmérséklet oszcillációja is mint a perifériás ritmust szabályozó faktor. Az idegi szabályozásban több szövetben is meghatározó szerepe van a szimpatikus beidegzésnek, a hormonok közül pedig a glukokortikoidok és a melatonin szerepe a legjobban ismert a ritmus közvetítésében. A ritmosos szisztémás jel a perifériás sejtekben egyrészt közvetlenül befolyásolhat bizonyos működéseket, de hathat az adott sejt saját oszcillátorának átállításán keresztül is. E két hatásmechanizmus részesedése a szabályozásban napjaink egyik központi kérdése.

A cirkadián ritmus főbb humánélettani vonatkozásai

Régóta ismert számos élettani paraméter és folyamat szabályos napi ritmusa, és ezek jelentőse része állandó környezeti körülmények mellett is napszaki ingadozást mutat, azaz cirkadián szabályozás alatt áll. Az alvás-ébrenlét, a vizeletszekréció és a testhőmérséklet ritmusának vizsgálata alapján bizonyította Jürgen Aschoff híres andechsi "bunkerkísérletében", hogy az emberi szervezet is képes endogén időmérésre. Számos hormon szintjét szabályozza a cirkadián óra (pl. melatonin, kortizol, CRH, ACTH, prolaktin, adrenalin, inzulin, pajzsmirigy hormonok, tesztoszteron), és a keringési rendszer fő paraméterei, a nyugalmi pulzus és vérnyomás is cirkadián ritmust követ. Az alapvető laborvizsgálati paraméterek közül kiemelendő a vérben a leukocita populációk számbeli változása és a szérum vasszintjének cirkadián oszcillációja. Az idegrendszer cirkadián regulációjára utal, hogy bizonyos szenzoros és kognitív funkciók esetében is egyértelmű napi ingadozás mérhető.

Emberben a cirkadián óra működésének jellemzésére markerként többnyire az alvás-ébrenléti fázis meghatározása, illetve az állandó megvilágítási körülmények mellett mért melatonin-ritmus vizsgálata terjedt el. Ennek alapján különböző kronotípusokat különböztetünk meg,

az extrém korai típustól („pacsirta”) az intermedier típuson át a szélsőségesen késői („bagoly”) típusokig. A kronotípust meghatározzák az óragének genetikai polimorfizmusai, esetleg mutációi (mint pl. a FASPS esetében), de ugyanazon egyénnél is változik az életkorral, és befolyásolják környezeti hatások is. Több mint 20 000 adaton alapuló vizsgálat tanúsága szerint, amennyiben az egyén saját igényei szerint, azaz a biológiai órájához igazodva alakíthatja alvását, annak időzítésére még manapság is a helyi természetes fényviszonyok vannak domináns hatással, annak ellenére, hogy nyilvánvalóan számos szociális tényező és a mesterséges megvilágítás is befolyásolja.

Úgy gondoljuk, hogy a cirkadián szabályozás élettani jelentősége az emberi szervezetben hasonló ahhoz, amit akár a növények és gombák, akár az állatok esetén feltételezünk: lehetővé teszi, hogy a szervezet felkészüljön a periodikus környezeti változásokra, és hogy időben egymástól elkülönülhessenek antagonistikus folyamatok.

A cirkadián ritmus orvosi vonatkozásai

A cirkadián szabályozás és a patológiás folyamatok között többértű kapcsolat lehet. Egyrészt a cirkadián ritmus zavara maga is szerepelhet megbetegedést kiváltó tényezőként, másrészt számos olyan kórfolyamat ismert, amelynek a tüneteiben napszaki ingadozás tapasztalható. A ritmus további fontos orvosi vonatkozása a gyógyszeres kezelés és egyéb terápiaformák megfelelő időzítésének a lehetősége.

A ritmus endogén eredetű zavaráról beszélünk, ha a cirkadián óra nem képes a környezeti változások ritmusához alkalmazkodni. Ennek legjobban karakterizált formája a már említett FASPS, amikor a felgyorsult molekuláris óraműködés következtében a szervezet működési aktivása és a környezeti tényezők napszaki változása között nem alakul ki megfelelő összhang.

Míg az endogén eredetű zavarokról egyelőre keveset tudunk, nagy számú epidemiológiai adat áll rendelkezésre az exogén eredetű zavarokkal kapcsolatosan. A cirkadián ritmus jellegzetes modernkori zavara a jetlag, amely több időzónát átlépő repülőutak következménye lehet. Ilyenkor a

cirkadián óraműködés és a környezet közötti időbeli összhang néhány napra felborul, a belső időmérő rendszer csak némi lemaradással alkalmazkodik az új környezeti időhöz. A helyzetet tovább súlyosbítja az egyes szövetek, szervek egymáshoz képesti deszinkronizációja. Jellemző tünetek az étvágytalanság, a hányinger, a fejfájás, az ingerlékenység és a kimerültség. A váltott műszakban történő munkavégzés jóval több embert érintő, komoly krónikus ritmuszavar, amit epidemiológiai és kísérletes vizsgálatok alapján ma már egyértelműen rizikótényezőnek tekintünk bizonyos megbetegedések kialakulása és lefolyása szempontjából. Ilyen betegségek a metabolikus szindróma, az obesitas, a diabetes mellitus, különböző kardiovaszkuláris megbetegedések, szexuális diszfunkciók, pszichés kórképek és egyes rosszindulatú daganatok. 2007 óta az Egészségügyi Világszervezet (WHO) is rizikófaktorként tartja számon a váltott műszakban történő munkavégzést. A cirkadián ritmus krónikus zavarának leggyakoribb formája a szociális jetlag (SJL), aminek jelentőségére az elmúlt 10-15 év kutatásai hívták fel a figyelmet. A SJL a munkanapokon és szabadnapokon mért alvási középido különbsége. Az általános munka- és tanítási rend, a viszonylag korai, reggel 8 órák kezdés a korai típusoknak kedvez. A késői típusok a szociális kényszer folytán hétköznapiakon korán kelnek, hétvégén viszont a saját biológiai órájukhoz igazodva, a hétköznapiakhoz viszonyítva jelentősen később fekszenek és kelnek, aminek következtében nagy SJL-gel rendelkeznek. Egyre több tanulmány foglalkozik a SJL egészségkárosító hatásával: a SJL rizikófaktorának számít a depresszió, az elhízás, a metabolikus szindróma és a 2-es típusú diabetes kialakulása szempontjából, és gyakran társul különböző egészségkárosító magatartásformákkal.

Számos kórfolyamat tünetei mutatnak jellegzetes napszaki ingadozást. Jellemző példa az akut kardiovaszkuláris események (miokardiális infarktus, stroke, egyes aritmiák) reggeli halmozódása. A betegség tünetek időbeli változása szempontjából kiemelt szerepe van az óraműködés és az immunrendszer közötti szoros kölcsönhatásnak. Régóta ismert klinikai példák a szénanátha tüneteinek napszaki változásai, az asthma bronchiale rohamszerű rosszulléteinek hajnali gyakorisága vagy rheumathoid arthritisben az ízületi duzzanat, merevség és fájdalom reggeli

súlyosbodása. A szervezet bakteriális és virális fertőzésre adott válasza is jellegzetes napi ritmust követ. A vérben a fehérvérsejt populációk ritmikus változásai egyrészt a csontvelői szabályozás ritmusát követik, de befolyásolja azt a szövetekbe való leukocita kivándorlás intenzitásának napszaki ingadozása is. Ez utóbbit egyrészt a leukociták saját órája, másrészt az endothelsejtek, valamint a szövetekben zajló fiziológiás és gyulladásos folyamatok ritmicitása egyaránt befolyásolhatja. Mindezzel összhangban van, hogy számos citokin vérszintje is ritmusan változik.

A fiziológiás és patológiás folyamatok ritmikus voltából logikusan következik, hogy a diagnosztikában is figyelni kell a vizsgálat és a mintavétel időpontjára, és célszerű lehet egyes terápiás eljárásokat is megfelelően időzíteni. A kronoterápia célja a hatások és mellékhatások arányának optimalizálása, amihez nemcsak a patológiás folyamatok napszaki változásait kell figyelembe venni, hanem tekintettel kell lenni a gyógyszermetabolizmus és a kiválasztás időbeli változásaira is. Bár ma már szerepet kap a kronoterápia bizonyos betegségek kezelésében, a módszerek finomításán túl valószínűleg a személyre szabott terápia hozhat majd ezen a téren áttörést.

Célkitűzések

Amikor posztdoktori tanulmányutam során elkezdtem foglalkozni a cirkadián óra molekuláris részleteivel, fiziológusként különösképpen foglalkoztatott, hogy az órakomponensek között feltárt kölcsönhatások, a fehérjék expresszióját és működését módosító mechanizmusok milyen építőelemei lehetnek a szervezeti szintű ritmusos működéseknek, és hogy ezeknek a ritmusoknak milyen szerepe van a fiziológiás funkciók biztosításában és az egészség megőrzésében. Laborvezetőként nagy öröm volt olyan projekteket is tervezni, amelyek komplex fiziológiás működések és a cirkadián ritmus kapcsolatát elemzik. Bátorítóan hatott, hogy a kronobiológia területén nem ritkaság az ilyen komplex szemlélet, és így az sem, hogy ugyanazon munkacsoport a ritmusos folyamatokat sejt, szövet és szervezeti szinten egyaránt kutatja, vagy akár több modellorganizmust is alkalmaz a vizsgálatokhoz. A disszertációban ismertetésre kerülő tanulmányok célkitűzései részben ezt a sokszínűségre törekvést tükrözik és az alábbi pontokban foglalhatók össze:

1. Több tanulmányban is a pozitív órakomponens szintjének és aktivitásának szabályozását kívántuk vizsgálni a *Neurospora crassa* modellszervezet alkalmazásával. Célunk volt a WCC limitáló komponense, a WC-1 expressziójának vizsgálata, promóterének feltérképezése, és egyes promóter szakaszok funkciójának jellemzése. Terveztük a WCC foszforilációjának elemzését, és annak vizsgálatát, hogy a foszforiláció milyen módon függ össze a komplex aktivitásának szabályozásával. A WCC közvetíti a környezeti fényváltozások hatását az óraműködésre, ezért különösen izgalmas kérdésnek ígérkezett a WCC fényválaszának és a fényadaptációban alapvető szerepet játszó VVD működésének a tanulmányozása is.
2. A reaktív oxigén származékokról (ROS) ismert, hogy egyrészt a sejt állapotának és működésének érzékeny indikátorai, másrésztől különböző celluláris folyamatok szabályozásában mint szignálmolekulák vesznek részt. Ehhez kapcsolódóan merült fel bennünk a kérdés, hogy miképpen befolyásolja a ROS termelés

mértéke és jellege az endogén időmérést, és mi lehet a folyamat molekuláris mechanizmusa.

3. Miután az előző pontban ismertetett vizsgálatok a metabolizmus szerepére irányították figyelmünket az óra szabályozásában, kíváncsiak voltunk, hogy milyen más komponensek játszhatnak szerepet a két működés összehangolásában. Mivel élesztőben a környezeti cukorkoncentráció érzékelésében meghatározó a RAS2 által mediált szignalizációs útvonal, vizsgálni kívántuk a jól bevált modellorganizmusban, *Neurospora*-ban, hogy szerepet játszik-e a RAS2 működése a cirkadián óra és a metabolikus állapot összehangolásában.
4. Tekintettel arra, hogy doktoranduszként neutrofil granulociták működéseit vizsgáltam, különösen érdekelt, hogy ezek, az immunrendszer első védelmi vonalát képző, a humán keringésben legnagyobb számban előforduló sejtek rendelkeznek-e saját molekuláris órával, és hogy milyen szerepet játszik a cirkadián szabályozás e sejtek válaszreakcióinak irányításában.
5. Szerettük volna vizsgálatainkat tovább bővíteni a humán fiziológiás működések irányába, mégpedig úgy, hogy az alvási ritmus és fiziológiás működések kapcsolatát teljesen természetes környezetben tanulmányozzuk (field study). Ezen belül is elsősorban a legtöbb embert érintő ritmuszavar, a SJL hatásaira kívántunk koncentrálni, így célul tűztük ki a hétközben előforduló alvásritmus váltások és a tanulmányi teljesítmény, a kardiovaszkuláris szabályozás és az alvásminőség/alváshatékonyság kapcsolatának elemzését.

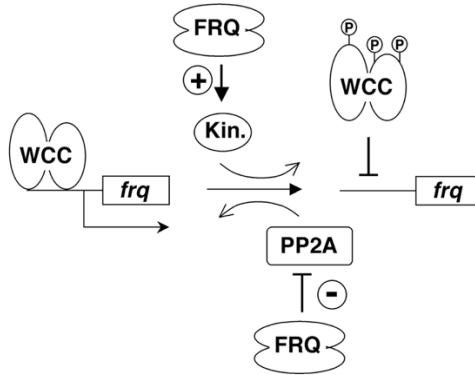
Az eredmények rövid ismertetése és diszkussziója

A molekuláris óraműködés vizsgálata *Neurospora crassa* modellorganizmusban

A foszforiláció szerepe a molekuláris óra pozitív komponensének szabályozásában

Vizsgálataink kezdetekor már ismert volt, hogy a FRQ alapvető szerepet tölt be a negatív visszacsatolásban, azaz a WCC aktivitásának felfüggesztésében, ugyanakkor a gátlás létrejöttének molekuláris mechanizmusa ismeretlen volt. A FRQ és a WCC stabil molekuláris kölcsönhatásán alapuló folyamat ellen szóltak a laboratórium korábbi eredményei és irodalmi adatok is. Kimutattuk, hogy a sejtmagban, ahol a WCC gátlása megvalósul, a komplex jóval nagyobb moláris mennyiségben van jelen, mint a FRQ. Kromatográfiás vizsgálatainkban pedig a FRQ és a WCC jól elkülönülő, minimális átfedést mutató frakciókban volt detektálható. Így tehát minden adat arra mutatott, hogy a FRQ és a WCC közötti molekuláris kölcsönhatás csak tranzienst jellegű lehet, ami felveti a katalitikus gátlás lehetőségét. Ezt vizsgálva kimutattuk, hogy FRQ jelenléte elősegíti a WCC foszforilációját, és e foszforiláció mértékével arányosan gátlódik a komplex *frq*-promóterhez való kötődése. A WCC foszforilációjának központi szabályozó szerepére utalt az is, hogy a WC-2 foszforilációja ritmusosan változott a cirkadián ciklus folyamán, és ezzel párhuzamosan (a foszforiláció fokozódásával) csökkent, illetve (a defoszforiláció során) nőtt a transzkripciós aktivitás. Megmutattuk azt is, hogy a WCC defoszforilációja és ezáltal aktivációja a PP2A működéséhez kötött, és ezáltal azonosítottuk a PP2A-t, mint a szabályozási folyamat esszenciális komponensét.

Úgy érzem, és az irodalmi visszhang is erre utalt, hogy tanulmányunk meghatározó módon járult hozzá az óra negatív és pozitív komponense közötti molekuláris együttműködés, és így a sejtszintű időmérés alapját képező negatív visszacsatolás megértéséhez.



A FRQ által létrehozott negatív visszacsatolás modellje

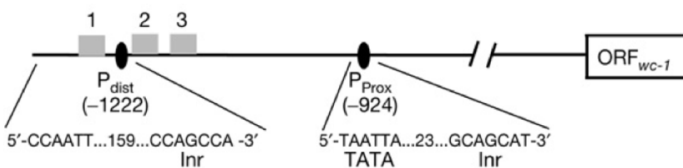
A WC-1 expresszió szabályozásának elemzése

Amennyiben egy *wc-1* hiányos törzset úgy módosítanak, hogy egy indukálható, heterológ promóter irányítja benne a *wc-1* kifejeződését, az indukciót követően ritmusos fenotípus jelenik meg. Ennek alapján felvetődött a kérdés, hogy van-e jelentősége a WC-1 expresszió transzkripció szintű szabályozásának az óraműködés szempontjából.

Részletesen vizsgáltuk egy olyan $\Delta wc-1$ háttérű törzs cirkadián tulajdonságait, amelyben a kinasavval indukálható promóter irányította a *wc-1* expressziót, és azt tapasztaltuk, hogy fény-sötétség ciklusokban a konidizáció fázisa késett, és a fénypulzusra adott fázisváltozás kis mértékű volt. A *wc-1* RNS szerkezetét elemezve három promóter-régiót azonosítottunk. Az egyik promóterről megállapítottuk, hogy működése sötétben a WCC aktivitásához kötött, fényre azonban alig reagál. Ezzel szemben egy másik promóter által szabályozott transzkripció sötétben független volt a WCC jelenlététől, ugyanakkor fényre érzékenyen reagált. A kódoló régió belül található harmadik promóter funkciója egyelőre tisztázatlan.

Eredményeink egyértelművé tették, hogy a WC-1 kifejeződésének transzkripció szintű szabályozása fontos szerepet játszik a kimeneti ritmus fázisának beállításában. Tekintettel arra, hogy a transzkripciós faktorok megnövekedett aktivitását gyakran kíséri azok fokozott bomlása, a

jellemzett pozitív visszacsatolás mind sötétben, mind fény hatása esetén biztosíthatja a WC-1 szint stabilitását. További eredményeink, amelyek egy társszerzős közleményben jelentek meg, arra utaltak, hogy a FRQ posztranzkripcióis szinten hatva serkenti a WC-1 expressziót.



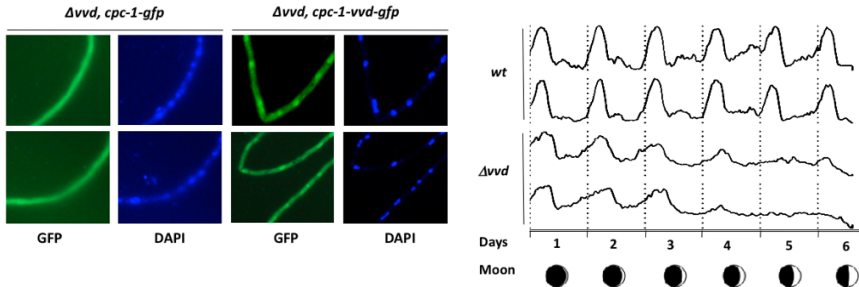
A wc-1 gén összetett szabályozása

A *Neurospora crassa* óra fényválaszának molekuláris elemzése

A cirkadián órának minden fényjelet a napszaknak megfelelően kell interpretálnia, függetlenül attól, hogy árnyéknak, napsütésnek vagy éppen erős holdfénynek van kitéve a sejt vagy organizmus. Az volt a feltevésünk, hogy az óra inkább a fényintenzitás időbeli változásait értelmezi, és nem az abszolút fényintenzitások jelentik számára az irányadó információt. Vizsgálataink kezdetekor abból indultunk ki, hogy a *Neurospora* két kék fényre reagáló receptora, a mindig jelenlévő WCC és a csak fény hatására kifejeződő VVD együttműködése teszi lehetővé a fényintenzitás változások követését.

Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a VVD szint rendkívül érzékeny indikátora a megelőző időszak fényintenzitásának, és ellentétben a korábban leírtakkal, a fehérje jelentős mennyiségben előfordul a sejtmagban is, nem csak a citoplazmában. A WCC fényindukálta dimerizációját és ezzel aktiválódását a VVD dinamikus komplex képzés révén képes gátolni, és ezzel elősegíti egy stabil, sötét konformációjú WCC frakció fenntartását, ami fényintenzitás növekedés esetén újabb válaszra képes. Természetes és kontrollált fényviszonyok mellett végzett kísérleteink eredményei arra utaltak, hogy VVD hiányában már az éjszakai holdfény is megzavarja a konidizációs ritmust.

Adataink összességében arra utaltak, hogy a VVD, molekuláris memóriát képezve, védi a cirkadián órát a zavaró, rövid vagy kis intenzitású fényingerektől, és így működése alapvető feltétele a ritmus stabilitásának természetes fényhatások mellett.



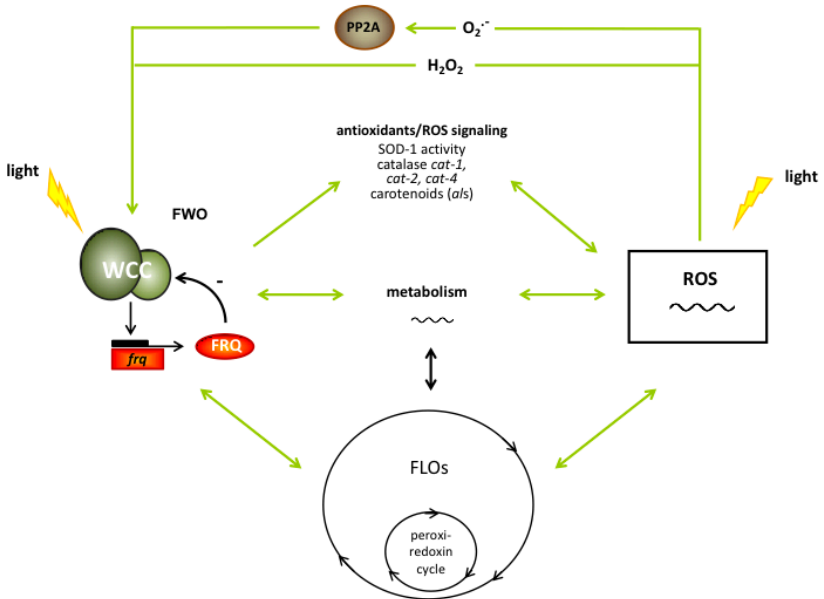
A VVD szubcelluláris megoszlása és szerepe a konidizációs ritmus fenntartásában természetes fényviszonyok mellett

A reaktív oxigén származékok (ROS) hatása a molekuláris óra működésére

Az utóbbi évtizedekben nyilvánvalóvá vált, hogy a különböző ROS-ok nemcsak toxikus faktorként lehetnek jelen a sejtekben, hanem fontos szignalizációs szerepet is betöltenek. Így *Neurospora crassa*-ban is több ROS-függő celluláris folyamatot írtak le, ide tartoznak a növekedés és a differenciálódás egyes részfolyamatai. Ismertek voltak olyan adatok is, amik arra utaltak, hogy a ROS termelés és a cirkadián óra egymásra hatással vannak. Ugyanakkor egyetlen organizmussal kapcsolatban sem állt rendelkezésre adat arról, hogy a ROS szintek befolyásolják-e a ritmus két alapvető paraméterét, a periódust és a fázist.

Azt tapasztaltuk, hogy mind a bazális, mind az emelkedett ROS szint befolyásolja a cirkadián óra működését. Mind a fenotípus, mind a molekuláris óra működésének követésével megmutattuk, hogy a ROS szint emelkedése rövidebbé teszi a periódust, ciklikus környezeti változások mellett pedig korábbi időpontra állítja a fázist. Eredményeink szerint a metabolizmus során keletkező és SOD-1 aktivitástól is függő szuperoxid

menyiség a meghatározó az óra szabályozása szempontjából. Kimutattuk, hogy a PP2A aktivitása ROS hatására nő, és így a ROS termelés a WCC defoszforilációjának szabályozásán keresztül befolyásolhatja az óraműködést. Munkánk elsőként mutatott rá arra, hogy a metabolizmus normál fluktuációi a ROS szintek megváltozása révén szerepet játszhatnak a ritmus finom-hangolásában.



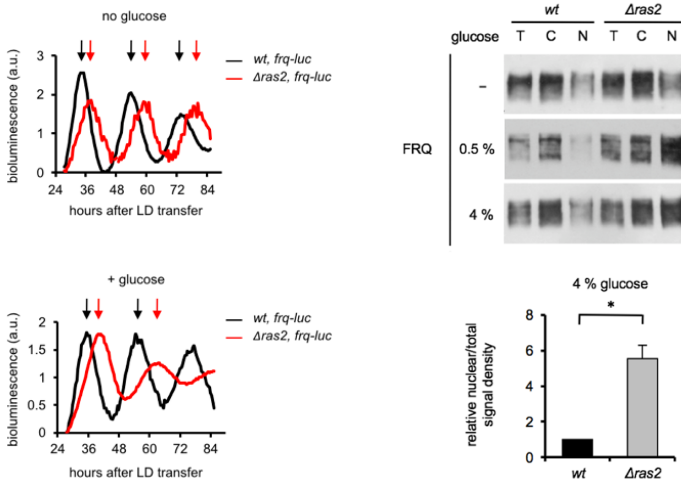
A ROS termelés és az időmérés közötti kölcsönhatások lehetőségei *Neurospora crassa*-ban

A RAS2 monomer G fehérje szerepe az óraműködés metabolikus kompenzációjában

A RAS mediálta útvonalak és az óraműködés közötti kölcsönhatásokra vonatkozó irodalmi adatok, valamint a metabolizmus és a RAS szignalizáció élesztőben ismert összefüggése alapján merült föl

bennünk, hogy vajon a cirkadián óra metabolizmus általi szabályozásában lehet-e szerepe a RAS2 fehérjének.

Eredményeink elsőként utaltak arra, hogy a RAS2 monomer G fehérje a cirkadián óra szabályozó faktora *Neurospora*-ban. RAS2 hiányában, szemben a vad típusú törzzsel, a glükóz koncentráció növelésének hatására nőtt a periódus és csökkent a *frq* oszcilláció amplitudója, fehérje szinten pedig késett a FRQ foszforilációja és fokozódott a fehérje nukleáris felhalmozódása. Kimutattuk azt is, hogy a RAS2 képes interakcióba lépni az adenilátciklázsal, és hogy egy cAMP analóg hozzáadása a táptalajhoz kompenzálja a RAS2 hiányának hatását a cirkadián fenotípusra.



***RAS2* hiányában megváltozik az óra válasza a glükóz koncentráció növelésére**

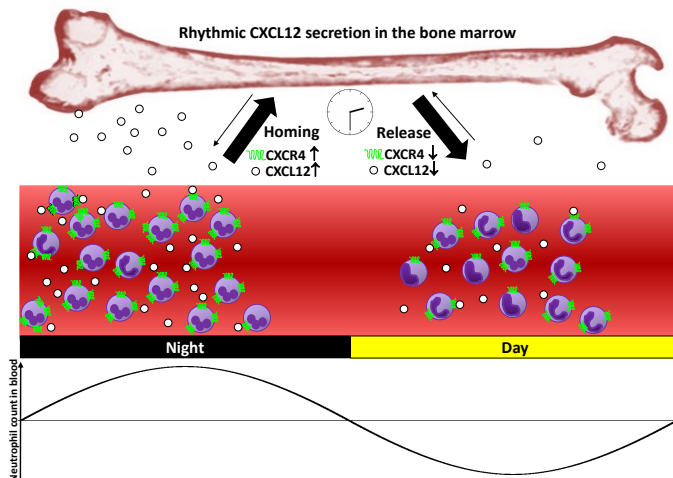
Eredményeink szerint a RAS2 jelátviteli útvonal a cAMP-szint befolyásolásán keresztül szerepet játszik az óraműködés stabilizálásában változó metabolikus körülmények mellett. Összességében tehát a *Neurospora* óra metabolikus kompenzációjának egy új mechanizmusára mutattunk rá.

A humán óraműködés és annak zavarával összefüggő állapotok vizsgálata

Neutrofil granulociták ritmikus működésének vizsgálata

A neutrofil granulociták működésének időbeli szabályozottságára már utaltak irodalmi adatok, ugyanakkor a szabályozás mechanizmusa ismeretlen volt, a sejtek molekuláris óraműködésének részletes elemzése nem történt meg.

Az órakomponensek expressziós különbsége, valamint azok foszforilációjának és szubcelluláris eloszlásának eltérése alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a neutrofil granulociták és a mononukleáris vérsejtek molekuláris órája eltérő módon működik, és a neutrofil granulociták gyengébb (downregulált) órafunkcióval rendelkeznek. A PLB-985 myeloid leukémia sejtvonallal segítségével kimutattuk, hogy a granulocita irányba való differenciálódás folyamán jelentősen módosul az egyik központi órakomponens, a PER2 expressziója.



A humán neutrofil granulocita populáció kor szerinti megoszlásának változása (felső ábrarész) és a sejtszám alakulása (alsó ábrarész) a nap folyamán

A keringő neutrofil granulocita készlet érettség szerinti összetételében jellegzetes cirkadián ingadozást állapítottunk meg, ami párhuzamosan alakult a csontvelőbe való visszatérést szabályozó citokin, a CXCL12 oszcillációjával. A neutrofil granulociták eliminációs mechanizmusai közül a fagocitózis és a szuperoxid termelés napszaki változását tapasztaltuk, és kimutattuk, hogy a szuperoxid termelésért felelős NADPH oxidáz kifejeződése is ritmusos.

Összefoglalva, eredményeink arra mutattak rá, hogy a humán neutrofil sejtek válaszkészségének napszaki változásait nem a sejt saját molekuláris órája, hanem szisztémás faktorok szabályozhatják, és hogy ennek a szabályozásnak lényeges komponense a sejt készlet érettség szerinti összetételének időbeli változása.

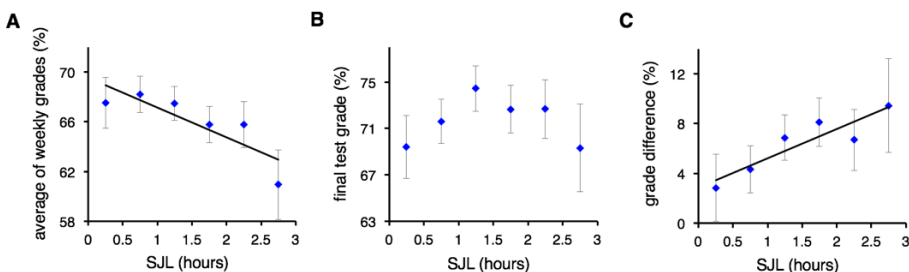
Az alvás időzítése és az egyetemi tanulmányi teljesítmény közötti összefüggések

Míg a hagyományos munkaidő és oktatási beosztás a korai típusok természetes alvásidőzítéséhez illeszkedik, a késői típusok esetében gyakori a hétköznapi és a hétvégi (vagy szabadnapi) alvásablak jelentős eltérése. Ezen eltérés mértékét jellemzi a szociális jetlag (SJL). Feltételeztük, hogy az alvás időzítése hatással lehet egyetemünk hallgatóinak tanulmányi teljesítményére, és hogy ebben a hatásban a SJL meghatározó tényező lehet, sőt, esetleg jobb prediktornak adódik, mint a kronotípus.

Mintánkban az átlagos kronotípus és a lakóhely időzónán belüli elhelyezkedésének összefüggése értékes adattal járult hozzá azokhoz a vizsgálati eredményekhez, melyek szerint a természetes fényviszonyok számítanak még ma is a legmeghatározóbb *zeitgeber*-nek. Felmérésünkben a SJL negatívan korrelált a hallgatók által szorgalmi időszakban hetente írt tesztek eredményével. Ezzel szemben a korábbi időszakra jellemző SJL nem mutatott összefüggést annak a vizsgatesztnek az eredményével, amit abban az időszakban írtak a hallgatók, amikor minden nap saját ritmusuk szerint alhattak, azaz nem volt SJL-ük. A heti teszt időpontja is meghatározó volt a tanulmányi teljesítmény szempontjából: a reggeli

tesztek esetében a késői típusok gyengébben teljesítettek, mint a korai típusok.

Eredményeink egy új területen, az egyetemi tanulmányi teljesítménnyel kapcsolatban mutattak rá az SJL lehetséges negatív hatásaira, és irányították a figyelmet az SJL mérséklésének fontosságára.



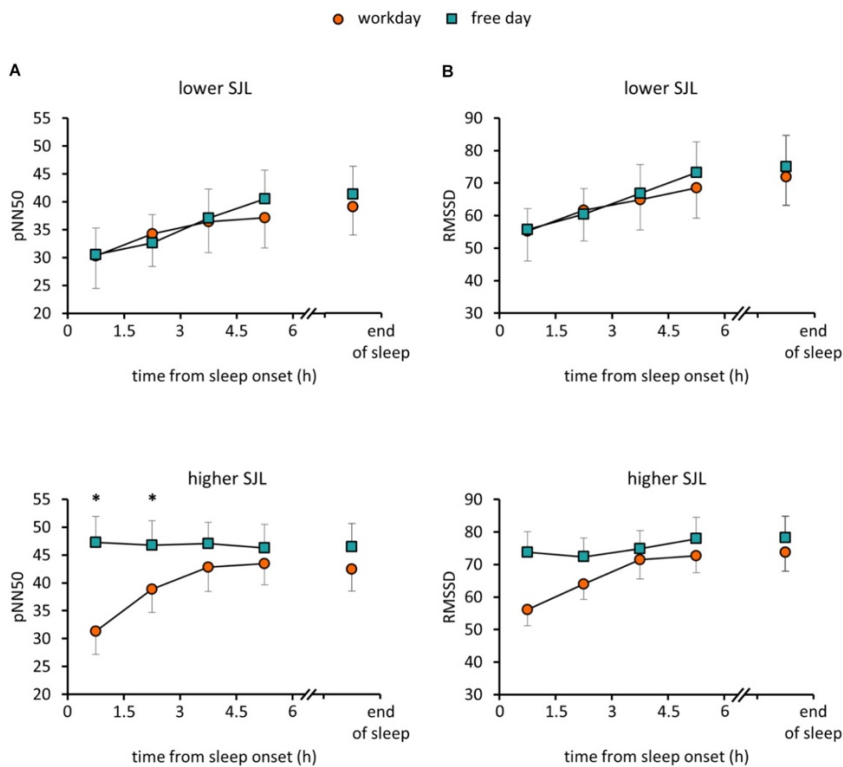
Az SJL kapcsolata a heti tesztek eredményeivel (A), a vizsga tesztek eredményeivel (B) és a két teszt eredményei közötti különbséggel (C)

A szociális jetlag összefüggése az alvásminőséggel és a szív működés szabályozásával

Mára már sokszorosan alátámasztott tény, hogy a cirkadián ritmus komoly zavarai járó állapotok, mint például a többműszakos munkavégzés vagy a gyakori jetlag, különböző kardiovaszkuláris megbetegedések rizikófaktorai. Ugyan a SJL jobbra mérsékeltebb ritmuszavarral jár, de sokkal nagyobb populációt érint, mint ezek az állapotok, ezért a kardiovaszkuláris rendszerre kifejtett esetleges negatív hatása komoly népegészségügyi problémát jelenthet.

Az alvás első néhány órájában a SJL mértékével arányosan különböző alanyaink munkanapi és szabadnapi szívfrekvencia variabilitása (HRV-je). Minél inkább eltért az adott egyén munkanapi alvásidőzítése a kronotípusához közelebb álló szabadnapi alvásidőzítéstől, annál gyengébben érvényesült hétköznapiakon az előnyösnek tekintett paraszimpatikus aktivitás a kardiovaszkuláris szabályozásában. Ezt az eltérést nem kompenzálta ellentétes irányú különbség az alvás későbbi

szakaszaiban. A HRV változáshoz hasonlóan a hétköznapi szubjektív alvásminőség is negatív összefüggést mutatott a SJL-gel.



A HRV paraméterek alakulása a különböző SJL-lel rendelkezők csoportjaiban az alvás folyamán

Eredményeink elsőként mutattak rá arra, hogy a SJL károsan befolyásolhatja a kardiovaszkuláris szabályozást, valamint az alvás minőségét és hatékonyságát.

Köszönetnyilvánítás

A dolgozatot zárva, szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik az évek során tudományos gondolkodásomat, szemléletemet formálták, illetve biztatásukkal, tanácsaikkal vagy anyagi eszközökkel támogatták a munkámat.

Elsőként szeretnék megemlékezni gimnáziumi tanáraimról és arról a szellemi közösségről, amely, akkori nevén a Fazekas Mihály Fővárosi Gyakorló Gimnáziumban körülvett. Fontosnak érzem kiemelni matematika tanárom, Táborné Vincze Márta, magyar tanárom, Sümeginé dr. Tóth Piroska és történelem tanárom, Jóvérné Szirtes Ágota nevét, akik elemző gondolkodásra és problémamegközelítésre, igényes munkára tanítottak.

A tudomány világába TDK témavezetőm, Dr. Kapus András vezetett be, akinek barátsága, támogatása a PhD tanulmányaim alatt is meghatározó volt. Köszönöm PhD témavezetőmnek, Dr. Ligeti Erzsébetnek, hogy a korábbi közös munkát követően is figyelemmel kísérte tevékenységemet, tanácsokkal, eszközökkel támogatta munkámat. Köszönöm az Élettani Intézet igazgatóinak, Dr. Fonyó Attilának, Dr. Spät Andrásnak és Dr. Hunyady Lászlónak a munkámhoz nyújtott segítséget, a megfelelő feltételek biztosítását.

Szívesen gondolok vissza azokra az időszakokra, amiket Wilhelm Just, Felix Wieland, később pedig Walter Neupert munkacsoportjában tölthettem. Diákként, illetve fiatal kutatóként példát jelentett számomra tudomány iránti alázatuk, kutatói szemléletük, támogató emberségük.

Michael Brunner mellett először Münchenben, majd Heidelbergben összesen 6 évig dolgoztam. Gondolkodásmódja azóta is vezérfonalként szolgál számomra, büszke vagyok barátságára és hálás azért, hogy önálló munkacsoport alakításomat eszközökkel is támogatta.

Nagyon köszönöm egykori és jelenlegi közvetlen munkatársaimnak, Dr. Gyöngyösi Norbertnek, Dr. Ella Krisztinának, Südy Ágnesnek, Szőke Anitának és Makara Krisztinának, hogy csatlakoztak munkacsoportomhoz, és kitartásukkal, lelkesedésükkel, szakmai hozzáértésükkel és igyekezetükkel számos akadály leküzdésében társaim voltak. Vitathatatlan

érdemük laborunk barátságos és támogató légkörének megteremtése, megőrzése. Köszönöm a laborban dolgozó diákkörös hallgatók lelkes együttműködését is.

Köszönöm az Élettani Intézet munkatársainak a sok segítséget. Külön köszönet illeti Dr. Mócsai Attilát és Dr. Geiszt Miklóst, akikkel a PhD megkezdése óta dolgozunk együtt és egymás mellett, és mind eszközökkel, mind tanácsokkal segítették munkámat.

Végül köszönöm családomnak, hogy mindvégig mellettem álltak, szeretettel és megértéssel támogatták munkámat.

Közleményjegyzék

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Összesített impakt faktor: 126,47

Hivatkozások száma: 618

1.

Schafmeier T., Haase A., **Káldi K.** (megosztott első szerző), Scholz J., Fuchs M. and Brunner M.

Transcriptional feedback of *Neurospora* circadian clock gene by phosphorylation-dependent inactivation of its transcription factor (2005)
Cell 122: 235-246 IF: 29,431

2.

Káldi K., Herreros González B. and Brunner M.

Transcriptional regulation of the *Neurospora* circadian clock gene *wc-1* affects the phase of circadian output (2006)
EMBO Reports 7: 199-204 IF: 8,175

3.

Schafmeier T., **Káldi K.**, Diernfellner A., Mohr C. and Brunner M.

Phosphorylation dependent maturation of *Neurospora* circadian clock protein from a nuclear repressor towards a cytoplasmic activator (2006)
Genes Dev. 20: 297-306 IF: 15,050

4.

Brunner M. and **Káldi K.**

Interlocked feedback loops of the circadian clock of *Neurospora crassa* (2008)
Mol Microbiol. 68: 255-262 IF: 5,213

5.

Kozma-Bognár L. and **Káldi K.**

Always on time: synchronization of the fungal and the plant circadian clock by light (2008)
ChemBioChem 9: 2565-2573 IF: 3,322

6.

Malzahn E., Ciprianidis S., **Káldi K. (megosztott első szerző)**, Schafmeier T. and Brunner M.

Photoadaptation in *Neurospora* by competitive interaction of activating and inhibitory LOV domains (2010)

Cell 142:762-72

IF: 32,401

7.

Gyöngyösi N., Nagy D., Makara K., Ella K. and **Káldi K.**

Reactive oxygen species can modulate circadian phase and period in *Neurospora crassa* (2013)

Free Radic Biol Med 58: 134-143

IF: 5,710

8.

Gyöngyösi N. and **Káldi K.**

Interconnections of ROS homeostasis and circadian rhythm in *Neurospora crassa* (2014)

Antioxid Redox Signal. 20: 3007-3023

IF: 7,407

9.

Haraszti R. Á., Ella K., Gyöngyösi N., Roenneberg T. and **Káldi K.**

Social jetlag negatively correlates with academic performance in undergraduates (2014)

Chronobiol Int. 31: 603-12

IF: 3,343

10.

Ella K., Csépanyi-Kömi R. and **Káldi K.**

Circadian regulation of human peripheral neutrophils (2016)

Brain Behavior and Immunity 57: 209-221

IF: 5,964

11.

Gyöngyösi N., Szöke A., Ella K. and **Káldi K.**

The small G protein RAS2 is involved in the metabolic compensation of the circadian clock in the circadian model *Neurospora crassa* (2017)

J Biol Chem 292: 14929-14939

IF: 4,010

12.

Ella K., Mócsai A. and **Káldi K.**

Circadian regulation of neutrophils: Control by a cell-autonomous clock or systemic factors? (2018)

Eur J Clin Invest. 2018;e12965.

IF: 2,784

13.

Sűdy Á. R., Ella K., Bódizs R. and **Káldi K.**

Association of Social Jetlag With Sleep Quality and Autonomic Cardiac Control During Sleep in Young Healthy Men (2019)

Front Neurosci. 2019 Sep 6;13:950.

IF: 3,648 (2018)

A posztdoktori időszak további közleményei

Káldi K., Bauer M.F., Sirrenberg C., Neupert W. and Brunner M.

Biogenesis of Tim23 and Tim17, integral components of the TIM machinery for matrix targeted preproteins (1998)

EMBO J. 17:1569-76

IF: 13,171

Káldi K. and Neupert W.

Protein translocation into mitochondria (1998)

Biofactors 8: 221-224

IF: 1,852

Geiszt M., Szeberényi J., **Káldi K.** and Ligeti E.

Role of different Ca^{2+} sources in the superoxide production of human neutrophil granulocytes (1999)

Free Rad Biol Med 26:1092-1099

IF: 4,079

Donzeau M., **Káldi K. (megosztott első szerző)**, Adam A., Paschen S., Wanner G., Guiard B., Bauer M. F., Neupert W. and Brunner M.

The preprotein translocase component Tim23 links the inner and outer mitochondrial membranes (2000)

Cell 101: 401-412

IF: 32,440

Paschen S.A., Rothbauer U., **Káldi K.**, Bauer M.F., Neupert W. and Brunner M.

The role of the TIM8-13 complex in the import of Tim23 into mitochondria (2000)

EMBO J. 19:6392-6400

IF: 13,999

Lacza Z., **Káldi K.**, Kövecz K., Görlach C., Nagy Z., Sándor P., Benyó Z. and Wahl M.

Involvement of prostanoid release in the mediation of UTP-induced cerebrovascular contraction in the rat (2001)

Brain Res. 896: 169-174

IF: 2,489

Káldi K., Szeberényi J., Rada B. K., Kovács P., Geiszt M., Mócsai A. and Ligeti E.

Contribution of phospholipase D and a brefeldin A sensitive ARF to chemoattractant induced superoxide production and secretion of human neutrophils (2002)

J. Leuk. Biol. 71: 695-700

IF: 4,132

Horváth B., Hrabák A., **Káldi K.**, Sándor P. and Benyó Z.

Contribution of the heme oxygenase pathway to the maintenance of the hypothalamic blood flow during diminished NO synthesis (2003)

J. Cereb. Blood Flow Metab. 23: 653-657

IF: 5, 370

Lacza Z., Dézsi L., **Káldi K.**, Horváth E.M., Sándor P. and Benyó Z.

Prostacyclin-mediated compensatory mechanism in the coronary circulation during acute NO synthase blockade (2003)

Life Sci 73: 1141-1149

IF: 1,944

Káldi K., Kalocsai Á., Rada B. K., Mezö G., Molnár G., Báthori G.Z. and Ligeti E.

Degranulation and superoxide production depend on cholesterol in PLB-985 cells (2003)

Biochem. Biophys. Res. Commun. 310:1241-1246

IF: 2,836

Rada B.K., Geiszt M., **Káldi K.**, Timar C. and Ligeti E.

Dual role of phagocytic NADPH oxidase in bacterial killing. (2004)

Blood 104: 2947-2953

IF: 9,782

Sirokmany G., Szidonya L., **Káldi K.**, Gaborik Z., Ligeti E. and Geiszt M.

Sec14 Homology Domain Targets p50RhoGAP to Endosomes and Provides a Link between Rab and Rho GTPases (2006)

J. Biol. Chem. 281: 6096-6105

IF: 5,808

Ruisanchez E., Cselenyák A., Papp R.S., Németh T., **Káldi K.**, Sándor P. and Benyó Z. Perivascular expression and potent vasoconstrictor effect of dynorphin a in cerebral arteries (2012)

PlosOne 7: e37798

IF: 3,730